

2016 Septiembre, 6(4): 1-1

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON GHRELINA AL MEDIO DE CULTIVO SOBRE LA FRECUENCIA DE APOPTOSIS DE CELULAS DEL CÚMULUS

Sirini MA¹; Nikoloff N¹; Anchordoquy JM¹; Anchordoquy JP¹; Pascua AM¹; Testa JA¹; Furnus CC^{1, 2}.

*Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET), UNLP/CONICET, Calle 60 y 118 s/n (1900) ; (2) Cátedra de Citología, Histología y Embriología A, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.
e-mail: masirini@igevet.gob.ar*

La apoptosis, también conocida como muerte celular programada, es un proceso altamente regulado y crucial en todos los organismos multicelulares. Si bien se ha demostrado, tanto en estudios in vivo como in vitro, que las células de la granulosa mueren a través del proceso activo de apoptosis, la información sobre este fenómeno en células del cúmulus (CC) durante la maduración in vitro (MIV) es todavía muy limitado. En algunos estudios se ha encontrado una relación inversa entre la tasa de apoptosis de las CC que rodean al ovocito y su capacidad de desarrollo posterior. Estudios en diferentes especies reportan que altas concentraciones de ghrelina, una hormona gastrointestinal sintetizada principalmente en las células oxínticas del estómago, podrían afectar negativamente la maduración de los ovocitos, afectando así el desarrollo preimplantacional de los embriones. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de ghrelina sobre la tasa de apoptosis en las CC durante la MIV de ovocitos bovinos. Los complejo ovocito-cúmulus (COCs) obtenidos de ovarios de frigorífico se maduraron 24 h en medio TCM 199 con 10% de suero fetal bovino y FSH, a 39°C en 5% CO₂. Los COCs se maduraron en medio sin suplementar (Control) y con el agregado de concentraciones crecientes de ghrelina (20pM; 40pM y 60pM). La apoptosis se evaluó con Anexina V-FICT. La prueba involucra la tinción simultánea con Anexina V-FICT (verde) y el colorante de ADN, yoduro de propidio (IP, rojo). Las células normales observadas al microscopio no presentan ninguna de las dos tinciones. Las células apoptóticas son visibles en color verde y pueden ser diferenciadas de las células necróticas por la tinción de IP (se tiñen de verde y naranja). Se analizaron 600 CC por tratamiento en 3 repeticiones. Se utilizó un diseño en bloques completamente aleatorio, y se realizó una regresión logística con el procedimiento GENMOD de SAS 9.1. El modelo incluyó los efectos del frigorífico y del tratamiento. La tasa de apoptosis fue mayor en las células cultivadas con el agregado de ghrelina (17,61%; 12,57%; 14,18% para 20pM; 40pM y 60pM, respectivamente) respecto al control (8,16%; $p < 0,05$). Las CC tratadas con 20 pM y 60pM presentaron tasas de apoptosis similares ($p > 0,05$), siendo estas mayores respecto a las tratadas con 40pM ($p < 0,05$). En conclusión, el agregado de ghrelina al medio de MIV ejerce un efecto negativo sobre las CC evidenciado por un aumento la tasa de apoptosis.

Palabras claves: Maduración in vitro; Ghrelina; Apoptosis.